



## Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana

### Morphologic and genetic characterization of ectomycorrhizae formed by *Pinus montezumae* and spore bank fungi in the Transmexican Volcanic Belt

Roberto Garibay-Orijel<sup>1</sup>✉, Emilia Morales-Marañón<sup>1</sup>, Mario Domínguez-Gutiérrez<sup>1</sup> y Andrés Flores-García<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Tercer Circuito s/n, Ciudad Universitaria. Apartado postal 70-233, 04510 México, D. F., México.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Av. Progreso No. 5, Col. Barrio de Santa Catarina, Coyoacán. 04010 México, D. F., México.

✉rgaribay@ibunam2.ibiologia.unam.mx

**Resumen.** Los hongos ectomicorrízicos son indispensables para el establecimiento y funcionamiento de los bosques templados. Algunos de ellos tienen esporas u otros propágulos resistentes y longevos; éstos se acumulan en el suelo forestal formando bancos de propágulos que constituyen la fuente de inóculo más importante después de disturbios severos. En este trabajo caracterizamos morfológica y genéticamente las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana. Las micorrizas se obtuvieron por medio de un bioensayo del suelo de 8 de los volcanes más representativos, con plántulas de *P. montezumae* cultivadas durante 7 meses. La identidad taxonómica de los hongos se obtuvo por la similitud genética de la región de los ITS. Se presentan las descripciones de 27 ectomicorrizas; de éstas, 20 no habían sido publicadas previamente. *Geopora* sp., *Hebeloma helodes*, *H. leucosarx*, *Peziza* sp. 1, *P. aff. ostracoderma*, Pezizaceae sp. 1, sp. 2, sp. 4, *Pulvinula constellatio*, *Sebacina* sp. 1, sp. 2, Sordariales sp. 1, sp. 2 y *Tuber separans*, no se habían encontrado en bancos de propágulos. Estas especies podrían usarse para reforestar con plantas y hongos endémicos, lo que aumentaría la sobrevivencia, pues ambos simbiosntes estarían adaptados a las condiciones ambientales locales.

Palabras clave: hongos ectomicorrízicos, morfotipos, pino, Eje Neovolcánico, propágulos resistentes.

**Abstract.** Ectomycorrhizal fungi are keystone in temperate forest establishment and functioning. Some of them have resistant and long living spores and propagules. These use to accumulate in soil, forming the so-called spore banks, which are the main inoculum resource after an intense disturbance. In this paper, we provide the morphological and genetic characterization of ectomycorrhizae formed by *Pinus montezumae* and the spore bank fungi from the Transmexican Volcanic Belt. We made a bioassay with *P. montezumae* and soil from 9 of the most representative volcanoes. Mycorrhizae were dissected after 7 months of seedling grow in a nursery. We identified the fungi by means of the genetic similarity of their ITS region sequences. We provide the description of 27 morphotypes, 20 of which had not been previously described. *Geopora* sp., *Hebeloma helodes*, *H. leucosarx*, *Peziza* sp. 1, *P. aff. ostracoderma*, Pezizaceae sp. 1, sp. 2, sp. 4, *Pulvinula constellatio*, *Sebacina* sp. 1, sp. 2, Sordariales sp. 1, sp. 2 and *Tuber separans* are reported for the first time in spore banks. The ectomycorrhizal fungi characterized could be used in reforestation using native plants and fungi. This would enhance plant survival due to the physiological adaptations of both symbionts to local environmental conditions.

Key words: ectomycorrhizal fungi, morphotypes, pine, Neovolcanic axis, resistant propagules.

## Introducción

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hifas de hongos y las raíces de aproximadamente el 95% de las plantas terrestres (Brundrett, 2009). En estas asociaciones se forman estructuras dentro de la raíz donde se

intercambian nutrientes como resultado de un programa de desarrollo sincronizado entre ambos simbiosntes. Las micorrizas se clasifican de acuerdo a su morfología y ultraestructura, en ectomicorrizas (ECM) en las que las hifas no penetran las células de la epidermis de la raíz y endomicorrizas, donde las hifas sí lo hacen (Brundrett, 2004). La micorriza se puede considerar como una extensión de la raíz y como el componente más activo de los órganos

vegetales de absorción de nutrimentos. Además, el micelio extra radical puede conectar a varias plantas formando una red subterránea de transporte de agua y nutrimentos entre diferentes plantas de la comunidad vegetal (Simard et al., 2002). Las ECM en particular, mejoran la absorción de nutrimentos inorgánicos, permiten el uso de nutrimentos orgánicos y pueden proteger a la planta de altas concentraciones de metales pesados y de patógenos. Los hongos obtienen azúcares simples que llegan a constituir hasta el 30% de la productividad primaria neta, en el caso de plántulas (Smith y Read, 1997). La simbiosis ectomicorrízica es un componente esencial de la mayoría de las comunidades forestales, ya que las especies arbóreas dominantes en bosques templados, en regiones alpinas y boreales, muchos bosques mediterráneos y en grandes áreas tropicales y subtropicales son especies ectomicorrízicas (Tedersoo et al., 2010).

Se han descrito unas 6 000 especies de hongos ectomicorrízicos (HECM) de los Phyla Ascomycota y Basidiomycota (Tedersoo et al., 2010); la mayoría de éstos presenta un ciclo de vida con fases asexuales y sexuales. La fase asexual está representada por el micelio y las micorrizas; la fase sexual por esporocarpos y esporas (Kjøller, 2006). Las puntas de raíces micorrizadas y la red de micelio extra radicular son esenciales en la mineralización de nutrimentos, su conversión a formas disponibles para la absorción por la planta (Smith y Read, 1997). Algunas especies fúngicas dedican la mayor parte de su biomasa a los tejidos del manto y tienen micelio poco desarrollado, mientras que otras especies colonizan relativamente pocas puntas radiculares, pero producen grandes cantidades de micelio en el suelo (Agerer, 2001).

Tradicionalmente, el estudio de la diversidad y la ecología de los HECM se realizaba a través de los esporomas pues son la única fase conspicua. En los últimos 20 años, el estudio de esta simbiosis ha tenido un auge gracias a las técnicas de biología molecular que permiten estudiarla a través de las micorrizas, esporas y micelio (Horton y Bruns, 2001; Peay et al., 2008). El estudio de la identidad de las ectomicorrizas inicialmente se hacía mediante su caracterización morfológica y anatómica (Sandermann et al., 1989; Agerer, 1991); de esta manera se describieron alrededor de 500 morfotipos, contenidos en las bases de datos "Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae" (Rambold y Agerer, 1997) y "Ectomycorrhizae Descriptions Database", así como otras fuentes especializadas.

A pesar de su importancia, en México sólo se han descrito las micorrizas de: *Laccaria bicolor* en *Pinus montezumae* (Santiago-Martínez et al., 2003); *Boletus clavipes*, *Laccaria laccata*, *Suillus pseudobrevipes* en *P. patula* y *S. pseudobrevipes* en *P. greggii* (Carrera-Nieva

y López-Ríos, 2004); *Pisolithus tinctorius* en *Eucalyptus urophylla* y *P. greggii* (García-Rodríguez et al., 2006); *Boletus rubropunctus* en *Quercus* sp. (Smith y Pfister, 2009); *P. tinctorius*, *Scleroderma texense* en *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* (Valdés et al., 2010); *L. bicolor*, *L. laccata*, *L. proxima*, *Hebeloma alpinum*, *H. leucosarx* y *H. mesophaeum* en *P. patula* y *P. pseudostrobus* (Carrasco-Hernández, 2010; Carrasco-Hernández et al., 2010; Jiménez-Ruiz, 2011). Ya que las ectomicorrizas tienen poca variación morfológica como para poder diferenciar especies cercanas, actualmente para su caracterización se emplea un esquema que combina la morfología y las secuencias de ADN (Jakucs et al., 2005; Pritsch et al., 2010; Wei et al., 2010; Wei y Agerer, 2011). Este es el método que empleamos en este trabajo.

En México, los bosques templados están dominados por géneros de angiospermas y gymnospermas formadores de ectomicorrizas, particularmente por el género *Pinus*, que está representado por 49 especies, casi el 50% de la diversidad mundial (Styles, 1993). Los bosques de pino son los de mayor distribución entre los distintos tipos de bosques de coníferas; se estima que cubren hoy alrededor de 75% de su distribución potencial, estimada en 10 millones de hectáreas, aunque los bosques bien conservados cubren sólo 5.2 millones (Challenger y Soberon, 2008). Estos bosques se desarrollan en áreas con rocas ígneas; también se encuentran a menudo sobre gneis, esquistos, rocas margas, areniscas, lutitas y calizas. Es característico un horizonte de humus de unos 10 a 30 cm y el suelo cubierto de hojas de pino (Styles, 1993). Debido a la fertilidad de sus suelos y su clima, han sido objeto de procesos de transformación con fines agrícolas y energéticos (leña) o por asentamientos humanos a lo largo de milenios. Con la conquista española, dichos procesos se acentuaron durante el siglo XX; el uso forestal no sostenible, los incendios forestales, el reparto agrario, así como la ganadería y el crecimiento urbano, han sido los factores más importantes en la destrucción de los bosques de pinos y de su biodiversidad (Challenger, 1998).

El restablecimiento de este ecosistema depende de que las plántulas encuentren hongos con quienes micorrizarse. En zonas donde aún hay bosque, esto sucede gracias al micelio en el suelo, pero en zonas donde el disturbio es severo o donde se ha perdido la vocación forestal del suelo o lejos del borde del bosque, las plántulas se micorrizan gracias a las esporas de HECM (Kjøller y Bruns, 2003). Los bancos de esporas y otros propágulos resistentes de HECM son determinantes en la regeneración después de una perturbación (Taylor y Bruns, 1999). Esto lo demuestra la composición de la comunidad de HECM establecida después de un incendio, que es un reflejo del banco de esporas preexistente (Baar et al., 1999).

Debido que en México se presenta un acelerado proceso de deforestación y erosión, consideramos muy importante conocer los hongos que forman bancos de esporas asociados a bosques de pinos dado que estos recursos tienen un potencial importante en la reforestación y restauración de nuestros bosques templados. En este trabajo presentamos la caracterización morfológica y genética de las micorrizas formadas entre *P. montezumae* y los hongos que forman bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana.

## Materiales y métodos

**Área de estudio.** La Faja Volcánica Transmexicana es una provincia biogeográfica que alberga uno de los mayores sistemas montañosos en México (Morrone et al., 2002). Está formada por un grupo de volcanes separados por las más importantes áreas urbanas y rurales del país y se extiende desde la costa del Pacífico hasta el golfo de México cerca del paralelo 19°. Hay más de 10 volcanes con una altitud por encima de los 3 500 m proporcionando zonas elevadas con bosques templados. La formación de la faja se dio durante el Oligoceno y concluyó en el Holoceno (Ferrusquía-Villafranca, 1998), lo que permitió la migración de *Pinus* del centro al sur de México en la sierra Madre Occidental durante el Oligoceno y en la sierra Madre Oriental durante el Plioceno (Styles, 1993). Debido a que los volcanes constituyen un puente discontinuo entre la flora y la fauna de la sierra Madre Oriental y Occidental, se produjo una diversificación de pinos en el Cuaternario (Farjon y Styles, 1997).

Para conocer la diversidad de los HECM presentes en los bancos de esporas en la Faja, se realizó un bioensayo (Baar et al., 1999; Bruns et al., 2006) con muestras de suelo de bosques de pino de los volcanes más importantes. El bioensayo se realizó con plántulas de *P. montezumae*

Lamb. pues esta especie presenta crecimiento medio y amplia distribución en la zona. El trabajo se dividió en 4 secciones: trabajo en campo, bioensayo, caracterización morfológica de las micorrizas y secuenciación de ADN de los morfotipos.

**Trabajo de campo.** Dentro de la Faja Volcánica Transmexicana, se trazaron 2 transectos de 1 km de largo en 8 volcanes con altura mayor a los 3 000 m (Cuadro 1). En cada transecto establecimos 6 puntos de muestreo cada 200 m. En cada punto recolectamos 3 muestras de suelo separadas por 50 m dentro de la misma altitud. Dado que los propágulos de HECM se encuentran en el suelo mineral (Taylor y Bruns, 1999), la capa orgánica fue removida y se recolectaron los primeros 20 cm de suelo. Las 3 muestras de suelo de cada punto se mezclaron para obtener un volumen total de 1 l. En el laboratorio, el suelo se tamizó con una malla de 1.0 mm y se secó al aire en bolsas de papel. El sustrato del bioensayo se preparó con este suelo mezclado en una relación 1:2:2 con arena y suelo agrícola previamente esterilizados (Kjoller y Bruns, 2003). Dado que buscamos eliminar toda posible fuente de contaminación, se decidió usar suelo agrícola de una chinampa de Xochimilco, pues en esta zona nunca se han desarrollado naturalmente hospederos ectomicorrízicos. Además, ya que las chinampas se encuentran aisladas por agua, la posibilidad de dispersión de esporas por mamíferos micófilos es reducida. El suelo agrícola y la arena se esterilizaron por separado en una autoclave con el siguiente ciclo: 30 minutos a 120° C a una presión de 1.5 kg cm<sup>-2</sup>, posteriormente se dejó enfriar y 24 horas después, se repitió el procedimiento; este ciclo se realizó en 3 ocasiones.

**Bioensayo de suelo con plántulas de pino.** Las semillas de *P. montezumae* se compraron a la empresa "Semilla Forestal Garantizada" y provenían de un lote del Estado de México. Las semillas se esterilizaron superficialmente con

**Cuadro 1.** Características de los volcanes estudiados dentro de la Faja Volcánica Transmexicana

| Volcán           | Estado                    | Al   | RAM         | Vegetación  |
|------------------|---------------------------|------|-------------|---|
| Nevado de Colima | Jalisco                   | 4330 | 3106 - 3627 | <i>Pinus montezumae</i> , <i>P. hartwegii</i>   |
| Patamban         | Michoacán                 | 3288 | 2517 - 3072 | <i>Quercus</i> spp. <i>Pinus</i> sp., <i>Alnus jorullensis</i> y <i>Abies religiosa</i> |
| San Andrés       | Estado de México          | 3450 | 2741 - 3072 | <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> spp. y <i>A. religiosa</i>                             |
| Nevado de Toluca | Estado de México          | 4690 | 3077 - 4073 | <i>P. montezumae</i> , <i>P. hartwegii</i>  |
| Ajusco           | D. F.                     | 3930 | 3265 - 3576 | <i>A. religiosa</i> , <i>P. montezumae</i> y <i>P. hartwegii</i>                        |
| Iztaccíhuatl     | Estado de México y Puebla | 5220 | 2948 - 3124 | <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> spp. y <i>A. religiosa</i>                             |
| Popocatepetl     | Estado de México y Puebla | 5500 | 3928 - 4035 | <i>P. hartwegii</i>   |
| Malinche         | Tlaxcala                  | 4503 | 3065 - 3359 | <i>P. montezumae</i> , <i>Quercus</i> spp. y <i>A. jorullensis</i>                      |

Al: Altitud en metros; RAM: Rango de altitud del muestreo.

peróxido de hidrógeno al 30% más una gota de Tween-20 durante 20 min. Las semillas se remojaron por 24 horas en agua destilada, posteriormente se germinaron durante 1 semana en vermiculita húmeda estéril. Las plántulas se trasplantaron en tubetes de polietileno rígido de 130 cm<sup>3</sup>. Por cada punto de muestreo se emplearon 10 tubetes y en cada uno se sembraron 2 plántulas. Como control negativo, sembramos 20 plántulas en recipientes con una mezcla de suelo agrícola y arena 1:1 esterilizadas. Las plántulas se mantuvieron en un invernadero con riegos diarios por nebulización y bajo un sistema de ventilación que reguló la temperatura, en las instalaciones del CENID-COMEF-INIFAP en la Ciudad de México. Dado que tuvimos un porcentaje importante de mortalidad de las plántulas después de la siembra, como medida profiláctica aplicamos un par de fungicidas específicos que no tienen efecto sobre hongos ectomicorrízicos. A la mitad de las plantas por lote se le aplicó Captán en una concentración de 2 g/l y a la otra mitad, el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* en una concentración de 2.5 g/l.

**Caracterización morfológica de las micorrizas.** Después de 7 meses, el suelo de las raíces se removió con cuidado bajo un chorro de agua sobre un tamiz. Las raíces limpias se cortaron y se colocaron en un frasco con agua destilada y se mantuvieron a 4° C. La disección de las raíces se realizó siempre en un periodo no mayor a 2 días después de haber sido lavadas. Las micorrizas se disectaron y caracterizaron en un microscopio estereoscópico Olympus SZ61; posteriormente, se colocaron individualmente en tubos eppendorf de 1 ml con agua destilada. Se caracterizó cada morfotipo siguiendo la metodología estándar (Agerer, 1991; Rambold y Agerer, 1997). Se observaron la longitud del sistema, textura a 40x, tipo de ramificación, color del manto, la morfología del micelio externo y rizomorfos, etc. Cada morfotipo fue fotografiado con una cámara Lumenera 1-2C. Una vez caracterizadas las micorrizas, se colocaron en CTAB al 2% para preservar el ADN.

**Secuenciación de ADN.** El ADN se extrajo con el kit XNAP (Sigma-Aldrich). En un tubo eppendorf estéril se agregaron 10 µl de solución de extracción y se colocó un fragmento de 2 mm de micorriza. Las muestras se colocaron en un termociclador con el siguiente programa: 10 minutos a 65° C y 10 minutos a 95° C. Al terminar, se les adicionaron 30 µl de solución de disolución, se dejaron reposar 30 min a temperatura ambiente y se almacenaron a 4° C (Kennedy et al., 2011). La región de los espaciadores ribosomales (ITS) se amplificó mediante PCR, pues tiene suficiente resolución para el nivel de especie en los HECM. Se utilizó la combinación de iniciadores ITS1F e ITS4 pues ha demostrado ser específica para hongos y discrimina el ADN de la planta (Gardes y Bruns, 1993). Para la PCR, se usó el kit XNAP Redextract (Sigma-Aldrich)

siguiendo las instrucciones del fabricante. El programa del termociclador fue 94° C por 3 min, 94° C por 1 min, 51° C por 1 min, 72° C por 1 min, se repitió 34 veces del paso 2 al 4, 72° C por 8 min y finalmente 4° C (Izzo et al., 2005). Los productos de PCR se limpiaron con ExoSAP-IT (USB Corporation) y se sometieron a la reacción de secuenciación con Big Dye Terminator Kit (Applied Biosystems) bajo las condiciones recomendadas por los fabricantes. Las secuencias de ADN se obtuvieron mediante un secuenciador ABI 3700 en la unidad de secuenciación de la Universidad de California en Berkeley. Las secuencias se editaron y alinearon a 97% de similitud para formar secuencias consenso en Geneious Pro 5.4.6 (Drummond et al., 2010). Las secuencias consenso constituyeron nuestras unidades taxonómicas operacionales (OTUS), pues un 3% es el estándar de variación intraespecífica aceptado en los estudios de ecología molecular de ectomicorrizas (Peay et al., 2008). Las secuencias consenso se registraron en GenBank (JN704809-JN704838). La identidad taxonómica de los morfotipos de micorrizas se determinó por la afinidad filogenética de sus secuencias consenso al compararlas contra las bases de datos del GenBank y UNITE mediante el programa BLAST (Altschul et al., 1997).

## Resultados

En total encontramos 27 morfotipos, de éstos, 16 taxa son Ascomycetes y 11 Basidiomycetes. El género mejor representado en los bancos de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana fue *Hebeloma* con 4 especies (Cuadro 2). A continuación se presentan las descripciones de cada uno de los morfotipos.

*Cadophora finlandica* Harrington y Douglas + *P. montezumae*. Micorriza monopodial pinada con tendencia dicotómica, las ramas crecen con diferente longitud de color café a café negruzco lustroso. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y doblada. Las puntas son cilíndricas no infladas de color blancuzco. El manto sólo se presenta en las puntas y permite ver las células de la epidermis, sin puntos de color y no es carbonizante. Manto de fibroso a algodónoso muy laxo con numerosas hifas emanantes de color gris a gris oscuro que comúnmente acumulan partículas de suelo (Fig. 1A). Las hifas emanantes parten del manto en todas direcciones y ocasionalmente forman rizomorfos delgados. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Ajusco, Iztaccíhuatl, Popocatepetl y San Andrés. Secuencia 99.0% similar a *Phialophora finlandica* AF486119 (Cuadro 2). *P. finlandica* es un sinónimo de *Cadophora finlandica* (Harrington y McNew, 2003). Puede formar micorrizas ericoides con hospederos ericoides y ectomicorrizas con hospederos ectomicorrízicos. Es frecuente encontrarla en hábitats con disturbios como



**Cuadro 2.** Identificación de los morfotipos de ectomicorizas por su afinidad filogenética en GenBank

| Genbank1 | Organismo                              | e         | % Id  | Coincidencias en NCBI               | Genbank2 |
|----------|--|-----------|-------|-------------------------------------|----------|
| JN704822 | <i>Cadophora finlandica</i>            | 0         | 99.3  | Raíz ectomicorrízica                | AF476977 |
|          |  | 0         | 99.0  | <i>Phialophora finlandica</i>       | AF486119 |
| JN704813 | <i>Geopora</i> sp.                     | 0         | 96.5  | <i>Geopora</i> cf. <i>cooperi</i>   | GU184101 |
|          |  | 0         | 92.8  | <i>Geopora cooperi</i>              | FR694202 |
| JN704820 | <i>Hebeloma albocolossum</i>           | 0         | 99.8  | <i>Hebeloma albocolossum</i>        | AY308583 |
|          |  | 0         | 99.7  | <i>Hebeloma alpinum</i>             | AY308584 |
| JN704810 | <i>Hebeloma helodes</i>                | 1.97e-176 | 97.5  | <i>Hebeloma helodes</i>             | FJ168577 |
| JN704825 | <i>Hebeloma leucosarx</i>              | 0         | 99.1  | <i>Hebeloma leucosarx</i>           | AB211268 |
|          |  | 0         | 98.8  | <i>Hebeloma alpinum</i>             | GU234108 |
| JN704814 | <i>Hebeloma mesophaeum</i>             | 0         | 99.7  | <i>Hebeloma mesophaeum</i>          | AB211272 |
| JN704832 | <i>Peziza</i> sp. 1                    | 0         | 95.6  | <i>Peziza badia</i>                 | EF644112 |
| JN704837 | <i>Peziza</i> aff. <i>ostracoderma</i> | 0         | 96.8  | <i>Peziza ostracoderma</i>          | EU819461 |
|          |  | 1.11e-111 | 86.0  | <i>Peziza phyllogena</i>            | AY789329 |
| JN704826 | <i>Pezizaceae</i> sp. 1                | 0         | 96.8  | Fungi sp.                           | HM036637 |
|          |  | 7.46e-143 | 89.9  | <i>Pezizomycetes</i> sp.            | GQ153065 |
| JN704828 | <i>Pezizaceae</i> sp. 2                | 0         | 96.6  | Fungi sp.                           | HM036637 |
|          |  | 1.23e-133 | 96.5  | <i>Pezizomycetes</i>                | GQ153065 |
| JN704833 | <i>Pezizaceae</i> sp. 3                | 0         | 94.6  | <i>Peziza ostracoderma</i>          | EU819461 |
|          |  | 1.81e-124 | 83.3  | <i>Peziza</i> sp.                   | FN669234 |
| JN704836 | <i>Pezizaceae</i> sp. 4                | 1.71e-104 | 87.5  | Ascomycete sp.                      | AY354274 |
|          |  | 1.56e-169 | 86.0  | <i>Trichophaea abundans</i>         | EU715596 |
| JN704819 | <i>Pezizales</i> sp. 1                 | 7.99e-113 | 86.7  | Fungi sp.                           | HM123685 |
|          |  | 1.22e-175 | 86.7  | <i>Trichophaea abundans</i>         | EU715596 |
| JN704831 | <i>Pulvinula constellatio</i>          | 0         | 98.2  | <i>Pulvinula constellatio</i>       | AF289074 |
|          |  | 5.18e-75  | 96.1  | <i>Otidea apophysata</i>            | EU784382 |
| JN704812 | <i>Pulvinula</i> sp. 1                 | 0         | 93.1  | <i>Pulvinula constellatio</i>       | AF289074 |
|          |  | 7.70e-153 | 85.3  | <i>Pezizomycotina</i> sp.           | GQ153139 |
| JN704815 | <i>Rhizopogon fallax</i>               | 0         | 100.0 | <i>Rhizopogon fallax</i>            | AF377143 |
| JN704817 | <i>Rhizopogon ochraceorubens</i>       | 0         | 98.1  | <i>Rhizopogon</i> sp.               | AJ515411 |
|          |  | 0         | 97.8  | <i>Rhizopogon ochraceorubens</i>    | AF071440 |
| JN704824 | <i>Sebacina</i> sp. 1                  | 0         | 99.3  | Sebacinaceae ambiental              | EF619757 |
| JN704835 | <i>Sebacina</i> sp. 2                  | 0         | 91.3  | <i>Sebacina vermifera</i>           | DQ520096 |
| JN704818 | <i>Sordariales</i> sp. 1               | 0         | 97.3  | Fungi sp.                           | HM123260 |
|          |  | 0         | 89.0  | <i>Podospora didyma</i>             | AY999127 |
| JN704834 | <i>Sordariales</i> sp. 2               | 0         | 94.4  | Fungi sp.                           | HM122853 |
|          |  | 0         | 89.9  | <i>Podospora didyma</i>             | AY999127 |
| JN704816 | <i>Suillus pseudobrevipes</i>          | 0         | 99.5  | <i>Suillus pseudobrevipes</i>       | SUIITSAE |
|          |  | 0         | 99.1  | <i>Suillus volcanalis</i>           | GQ249398 |
| JN704830 | <i>Suillus pungens</i>                 | 0         | 98.4  | <i>Suillus pungens</i>              | SUIITST  |
|          |  | 0         | 97.1  | <i>Suillus brevipes</i>             | GQ249388 |
| JN704829 | <i>Thelephoraceae</i> sp.              | 0         | 99.0  | <i>Tomentella ellisii</i> ambiental | DQ068971 |
|          |  | 0         | 95.6  | Thelephorales                       | DQ195592 |
| JN704827 | <i>Tuber separans</i>                  | 0         | 97.6  | <i>Tuber separans</i>               | HM485387 |
| JN704821 | <i>Wilcoxina mikolae</i>               | 0         | 99.8  | <i>Wilcoxina mikolae</i>            | AY880942 |
| JN704811 | <i>Wilcoxina rehmi</i>                 | 0         | 99.8  | Micorriza otideoide                 | AF351581 |
|          |  | 0         | 99.7  | <i>Wilcoxina rehmi</i>              | AF266708 |

Genbank1: número de acceso en Genbank de nuestras secuencias; e: indica la probabilidad de error en la identificación; % Id: porcentaje de similitud entre las secuencias; Genbank2: número de acceso en Genbank de las secuencias más similares a las nuestras.



**Figura 1.** Morfotipos de ectomicorrizas de *Pinus montezumae* con hongos del banco de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana 1. A, ectomicorriza con *C. finlandica*. B, ectomicorriza con *Geopora* sp. C, ectomicorriza con *H. albocolosum*. D, punta micorrizada con *H. albocolosum*. E, ectomicorriza con *H. helodes*. F, ectomicorriza con *H. leucosarx*. G, ectomicorriza con *H. mesophaeum*. H, punta micorrizada con *H. mesophaeum*. I, ectomicorriza con *Peziza* sp. 1. J, ectomicorriza con *Peziza* aff. *ostracoderma*. K, ectomicorriza con *Pezizaceae* sp. 1. L, punta micorrizada con *Pezizaceae* sp. 1. M, ectomicorriza con *Pezizaceae* sp. 2.



el fuego o la tala, así como en suelos contaminados por metales pesados y se ha sugerido que tiene un rol funcional en la resistencia a metales pesados como cadmio, plomo y zinc (Dos Santos et al., 2007). Secuencias 99% similares o más han sido reportadas de Suecia, Finlandia, Portugal, Alaska, Canadá y Argentina, en hospederos como *Picea abies*, *P. mariana*, *Pinus sylvestris*, *Populus tremuloides*, *Salix* y *Arbutus unedo*.

*Geopora* sp. + *P. montezumae*. De monopodial pinada a dicotómica. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta a veces ligeramente torcidas, son de color café oscuro. Las puntas son cilíndricas, en ocasiones ligeramente infladas de color café claro a gris. El manto no permite ver las células de la epidermis y aunque puede ser oscuro, no es carbonizante. Su superficie es de lisa a ligeramente lanosa con hifas emanantes cortas, gruesas y oscuras, aunque en ocasiones pueden ser más largas y de color café claro (Fig. 1B). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Popocatepetl. Secuencia 96.5% similar a *G. cooperi* GU184101 (Cuadro 2). Micorrizas con secuencias similares (más de 98%) sólo han sido reportadas en 2 sitios en California, EUA, asociadas a *Pinus ponderosa* y bosques mixtos. Morfológicamente, esta micorriza es similar a la de *Geopora* sp. Kå-L799 (Teder et al., 2006), coinciden particularmente en el tipo de ramificación y el manto transparente.

*Hebeloma albocolossum* M. Moser + *P. montezumae*. Ramificación dicotómica, cuyas ramas crecen con la misma longitud. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y varían de naranja claro a café oscuro (Fig. 1C). Las puntas son cilíndricas no infladas de color blancuzco a gris azulado. En zonas distales se observan las células de la epidermis a través del manto. El manto es semitransparente, sin puntos de color ni manto carbonizante. Su superficie es lisa a laxa con textura felposa y abundantes hifas emanantes muy delgadas y translúcidas que en la parte distal se pueden volver grisáceas (Fig. 1D). Las hifas, aunque se agregan, no forman rizomorfos. Distribución geográfica: Ajusco, Malinche y en la zona intermedia del Popocatepetl y el Iztaccíhuatl. Su secuencia es 99.8% similar a *H. albocolossum* AY308583. Secuencias casi idénticas han sido recuperadas en diferentes localidades de Asia y Noruega asociadas a géneros raramente considerados ectomicorrízicos como *Bistorta*, *Kobresia*, *Polygonum* y *Potentilla*. También se ha encontrado en Europa en *Larix* y *Betula*. Recientemente se ha demostrado que esta especie se dispersa fácilmente entre las plántulas de *P. sylvestris* in vivo (Menkis y Vasaitis, 2011).

*Hebeloma helodes* J. Favre + *P. montezumae*. Ramificación dicotómica, con ramas que crecen con la misma longitud. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta, son de color café claro con parches irregulares bri-

llantes. Las puntas son cilíndricas, no infladas y del mismo color. Las células de la epidermis se observan parcialmente a través del manto. El manto es delgado, con superficie lisa y textura de felposa a algodonosa, con abundantes hifas emanantes delgadas, blancas translúcidas (Fig. 1E). Distribución geográfica: Popocatepetl e Iztaccíhuatl. Secuencia de ITS 97.5% similar a *H. helodes* FJ168577. Micorrizas con secuencias similares (97.3%) sólo han sido encontradas asociadas a *Castanea dentata* en EUA.

*Hebeloma leucosarx* P.D. Orton + *P. montezumae*. Las raíces presentan una fase de crecimiento monopodial en la que se cubren por un manto café grisáceo denso. Luego se ramifican dicotómicamente en ramas que crecen con la misma longitud. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y son de color café grisáceo oscuro. En las ramificaciones, el manto es más laxo, semitransparente. Las puntas son cilíndricas, no infladas y café claro. Las células de la epidermis se observan parcialmente a través del manto en las partes ramificadas. En esta zona, el manto es delgado sin puntos de color. Su superficie es laxa, algodonosa con abundantes hifas emanantes delgadas, blancas translúcidas (Fig. 1F). Distribución geográfica: San Andrés. Su secuencia es 99.1% similar a *H. leucosarx* AB211268. La superficie del manto se vuelve blanco brillante en las zonas más maduras. Presenta abundantes partículas adheridas a la micorriza, las hifas emanantes son delgadas y de color blanco hialino, lo que coincide con las demás especies de *Hebeloma* aquí descritas, así como con la descripción de Carrasco-Hernández (2010), quien encontró que esta especie es eficiente para micorrizar con *P. patula* y *P. pseudostrobus*. Micorrizas con secuencias similares han sido encontradas en intervalos geográficos (Japón, Canadá, Finlandia) y de hospederos (orquídeas, angiospermas y gimnospermas) muy amplios.

*Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Quél. + *P. montezumae*. Ramificación dicotómica con ramas creciendo con la misma longitud. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta, algunas veces levemente torcida, de color marrón a café oscuro (Fig. 1G). Las puntas son cilíndricas, no infladas, blancuzcas o translúcidas (Fig. 1H). Se observan las células de la epidermis a través del manto. El manto es semitransparente, sin puntos de color ni manto carbonizante. Su superficie es laxa, lanosa con abundantes hifas emanantes que se concentran en la parte distal de la micorriza. No presenta rizomorfos. Distribución geográfica: Malinche. Su secuencia es 99.7% similar a *H. mesophaeum* AB211272. Nuestra descripción coincide con las de Fassi y Fontana (1966) y Carrasco-Hernández (2010), quienes destacan que cuando esta micorriza es joven, es de color blanco plateado y que rápidamente va cambiando a color leonado oxidado, terminando en una coloración café conforme aumenta la edad. Se han encontrado micorrizas con

secuencias casi idénticas en Europa, Canadá y Estados Unidos asociadas a *Populus*, *Picea* y *Quercus*. Es abundante en suelos con metales pesados. Sus esporas han sido encontradas en polvo dentro de edificios en las ciudades (Pitkäranta et al., 2011) y en bosques aislados dominados por hongos de dispersión de larga distancia (Geml et al., 2012), por lo que no es raro que haya aparecido en los bancos de esporas de la faja volcánica. En general, las especies de *Hebeloma* pueden ser encontradas en una amplia gama de especies de árboles jóvenes y pueden ser consideradas como hongos de primera etapa. Son comunes en árboles que crecen en suelos con fertilidad razonable, suelos cafés y viveros. Esta especie es de gran interés forestal en México, pues tiene una amplia distribución en la faja volcánica, particularmente en la sierra Fría desde el norte de Texcoco hasta el Popocatepetl. En esta zona, es uno de los hongos comestibles de mayor venta en los mercados (Perez-Moreno et al., 2008). Es por esto que otros autores ya la han usado en experimentos de micorrización y la han propuesto como una especie con mucho potencial alimenticio, además del forestal (Carrasco-Hernández, 2010).

*Peziza* sp. 1 + *P. montezumae*. De irregularmente pinada a dicotómica. El sistema micorrízico es muy característico pues la raíz está muy hinchada y las ramificaciones son sinuosas. El color general es café claro veteado. El manto es muy delgado y transparente, por lo que el color lo determinan las células de la superficie de la raíz, unas están claras y otras suberizadas, por eso la apariencia veteada. Las puntas más delgadas son translúcidas con algunas células de la raíz grisáceas. El manto es laxo, poco algodonoso, con micelio externo muy corto, con hifas que pueden ser transparentes o café claro (Fig. 1I). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Nevado de Toluca y Popocatepetl. Su secuencia es 95.6% similar a *P. badia* EF644112. Si bien se ha prestado mayor atención a la importancia de los Pezizales formadores de micorrizas (Fujimura et al., 2005; Tedersoo et al., 2006), existen pocas descripciones de los morfotipos de estas micorrizas. La micorriza que aquí describimos es muy similar a la de *Geopora* sp. Ke-L1056 en coníferas (Tedersoo et al., 2006) y a la de *Balsamia alba* + *Pinus jeffreyi* (Palfner, 1998), ambos miembros de Pezizales. Por las características del manto, corresponde con una ectendomicorriza. Sólo se han encontrado un par de micorrizas con secuencias similares en Estados Unidos y Canadá asociadas a *Betula* y *Populus*.

*Peziza* aff. *ostracoderma* + *P. montezumae*. Monopodial pinada a irregularmente dicotómica. El eje principal suele ser largo y las ramificaciones muy cortas. En general, es de tortuosa a moniliforme. El manto es granuloso, color negro de apariencia carbonizante. La superficie es lanosa, con micelio externo de hifas más o menos gruesas, oscuras y largas que se disponen perpendicularmente al eje. No

se observan las células de la raíz. Las puntas son rectas y negras (Fig. 1J). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Iztaccíhuatl. La secuencia de sus ITS es 96.8% similar a *P. ostracoderma* EU819461. Micorrizas con secuencias similares han sido encontradas asociadas a *Populus* en Canadá. *Pezizaceae* sp. 1 + *P. montezumae*. Ramificación dicotómica. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta, cortas, a veces dobladas y de color café que se torna más amarillento antes de la punta (Fig. 1K). Las puntas son cilíndricas, de color blanco translúcido (Fig. 1L). El manto es muy laxo en todo el sistema micorrízico, por lo que las células de la epidermis siempre son visibles. Las hifas son grises, en ocasiones agrupadas formando un manto delgado gris y en otras están separadas y emanan de la raíz, aunque en general son cortas. Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Malinche y Popocatepetl. No hay secuencias de ejemplares voucher con similitud superior a 90% en Genbank (Cuadro 2). Por el tipo de manto se trata de una ectendomicorriza muy similar a la de *Sarcosphaera coronaria* (Tedersoo et al., 2006). Se han encontrado micorrizas con secuencias similares en Canadá y Estados Unidos, asociadas a *Populus*, *Pinus* y *Pseudotsuga*.

*Pezizaceae* sp. 2 + *P. montezumae*. Sistema micorrízico que se divide en 2 ramas que crecen con la misma longitud, aunque en las micorrizas maduras las ramas son largas y dobladas en diferentes ángulos, por lo que la dicotomización no sucede en el mismo plano. Las ramas son ámbar, pardo y café oscuro. Las puntas están ligeramente infladas disminuyendo con la edad. Son translúcidas de color blancuzco, amarillento o grisáceo (Fig. 1M). Las células de la epidermis son evidentes pues el manto es laxo, en ejemplares jóvenes casi son imperceptibles. En las zonas donde son evidentes, el manto tiene un color café grisáceo. Hifas emanantes largas, separadas, de color café a café oscuro. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Malinche e Iztaccíhuatl. No hay secuencias de vouchers con similitud mayor a 90% en Genbank. Sólo se ha encontrado una micorriza similar asociada a plántulas de *P. sylvestris* en Lituania.

*Pezizaceae* sp. 3 + *P. montezumae*. Sistema micorrízico de monopodial pinado a dicotómico. El sistema, presenta un eje central desde el cual se originan ramas cortas, posteriormente, las ramificaciones se alargan con diferente dirección, tamaño y ángulo. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y se doblan sin ningún patrón. En principio, son blancas translúcidas, después se tornan amarillentas, luego cafés y posteriormente, cuando maduran y se desarrolla el manto, se vuelven café oscuras. Las puntas blancuzcas están ligeramente hinchadas, lo que disminuye con la edad. En las ramificaciones jóvenes se observan las células epidérmicas de la raíz, posteriormente



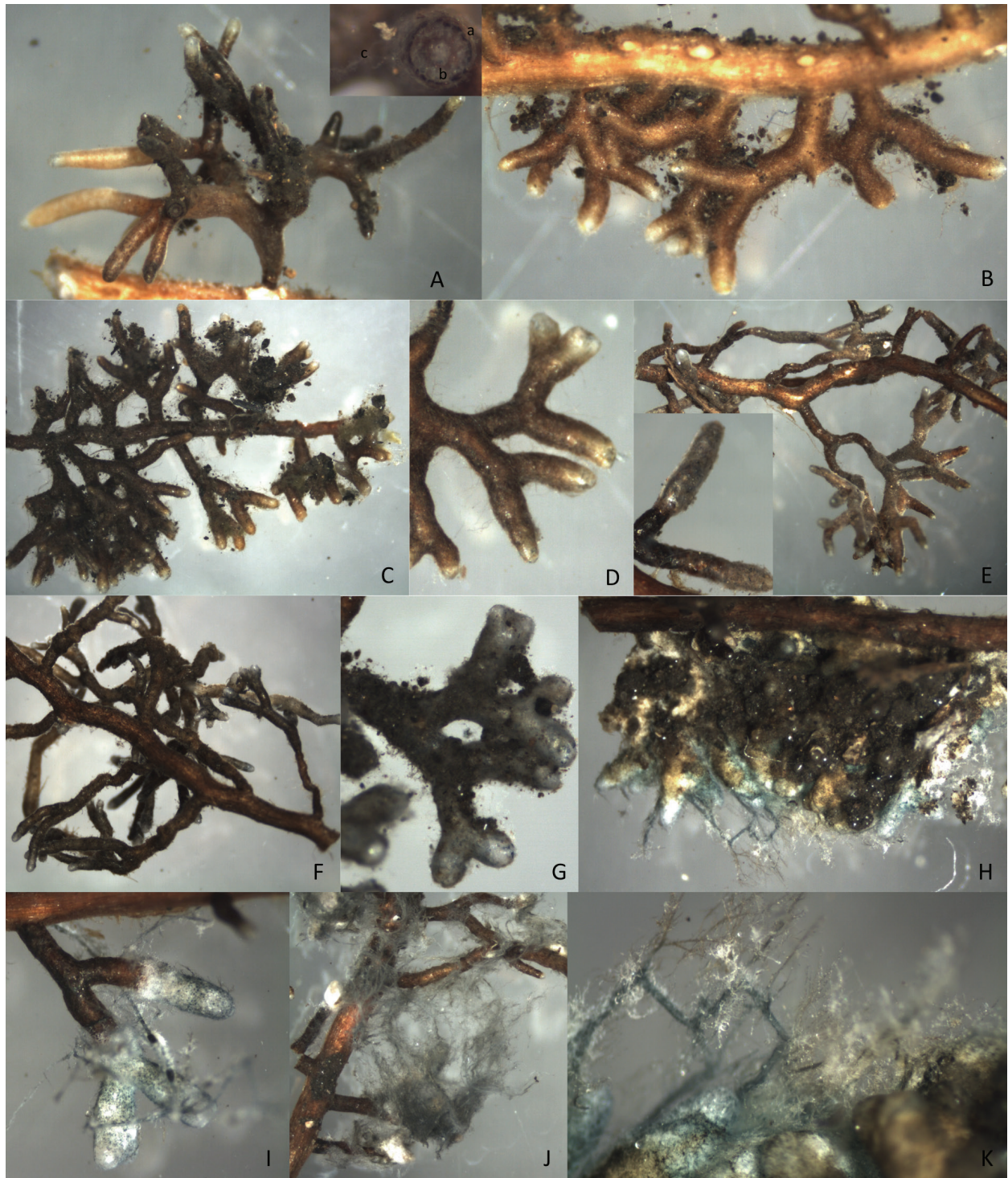
se va desarrollando un manto más o menos denso, de color café oscuro (Fig. 2A). De este manto, en algunas zonas, emanan hifas oscuras que ocasionalmente pueden ser largas. Distribución geográfica: Patamban. Es 94.6% similar a *P. ostracoderma* EU819461. Ninguno de los morfotipos descritos previamente se parece a éste, particularmente en cuanto a la complejidad de los cambios de forma y color conforme madura. Si bien la identidad taxonómica del hongo que forma esta micorriza es desconocida, esta especie ha sido ampliamente muestreada en Europa y Norteamérica asociada a bosques de encinos, así como a plántulas de angiospermas y gimnospermas de vivero. Esto indica que es un organismo ampliamente distribuido presente en los bancos de esporas.

*Pezizaceae* sp. 4 + *P. montezumae*. Sistema micorrízico dicotómico abundante, con raíces que crecen con la misma longitud y en el mismo plano. Las terminaciones no ramificadas son rectas y algunas se doblan en ángulos de 50°. Todo el sistema, salvo las puntas es café rubio brillante. Las puntas son cilíndricas, no infladas y blancuzcas. No se aprecian las células de la epidermis. El manto es denso, grueso y lanoso, con hifas emanantes cortas, café amarillentas, brillantes que capturan agregados de suelo (Fig. 2B). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: entre los volcanes Popocatepetl e Iztaccíhuatl. No hay ninguna secuencia con similitud mayor a 88% con la nuestra en las bases de datos. Tampoco hay morfotipos de ectomicorrizas de ascomicetos que se le asemejen.

*Pezizales* sp. 1 + *Pinus montezumae* Lamb. Sistemas micorrízicos muy abundantes y densos, con ramificación de irregular pinada a dicotómica. Las ramas se dividen hasta en 3 ocasiones. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y punta aguda (Fig. 2C). En ocasiones, se doblan con ángulo de 20°. Las puntas son cilíndricas, no hinchadas a ligeramente hinchadas y algunas con constricciones (Fig. 2D). Ramas color café anaranjado, café a café oscuro, con las puntas blancuzcas a café claras translúcidas. El manto es denso y delgado, no se observan células epidérmicas a través de él. La superficie es lanosa con abundantes hifas gruesas que generan considerable micelio externo a lo largo de toda la micorriza y que eventualmente pueden formar fascículos sin constituir rizomorfos. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Ajusco, Malinche, Popocatepetl, San Andrés, Iztaccíhuatl. No hay en las bases de datos secuencias de vouchers con similitud mayor a 87%; sin embargo, se han encontrado micorrizas con secuencias similares en Norteamérica y Europa asociadas a *Betula*, *Castanea*, *Pinus* y *Populus*. Una micorriza con secuencia idéntica se encontró en las comunidades de hongos ectomicorrízicos con propágulos resistentes en el Mediterráneo (Buscardo et al., 2010). Esto indica que esta especie es común en los bancos de esporas.

*Pulvinula constellatio* (Berk. y Broome) Boud. + *P. montezumae*. Sistema micorrízico heterogéneo, con cambios drásticos durante su desarrollo. Puede ser monopodial pinado a dicotómico. En cualquier caso, la modificación de la forma de la raíz precede a la formación de manto. Cuando las raíces son jóvenes, se estrangulan y sufren un engrosamiento digitiforme por la presencia del manto (Fig. 2E). Al crecer, estas proyecciones digitiformes se bifurcan y se hacen más largas, por lo que dejan de ser evidentes. Las ramificaciones son rectas, largas, a veces dobladas y ligeramente sinuosas. El manto primero es compacto, de color crema a café claro, luego se vuelve café grisáceo, ligeramente felposo y granular. La mayoría de las puntas son cilíndricas, no infladas, de color blancuzco y amarillento en el extremo, otras son de color café. No se observan células epidérmicas a través del manto. Las ramas más distales tienen escasas hifas emanantes cortas; de las proximales surgen hifas emanantes largas de color café, a veces gruesas que eventualmente producen rizomorfos delgados cafés. Distribución geográfica: Nevado de Colima, Malinche, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, Patamban y San Andrés. Su secuencia es 98.2% similar a *P. constellatio* AF289074, pero la morfología de dicha muestra es muy diferente a la que nosotros encontramos. Esa micorriza fue descrita como pequeña, con ramificación simple o monopodial, de color blanco, con hifas emanantes blancas y cortas (Amicucci et al., 2001). Esto no puede atribuirse a una falta de correlación entre nuestra secuencia y nuestro morfotipo pues la secuencia que aquí presentamos es la secuencia consenso de numerosas muestras a lo largo de la faja volcánica y la morfología de todas esas muestras siempre fue consistente. La causa más probable es una variación morfológica originada por el hospedero, pues nuestra micorriza está formada con *P. montezumae* mientras que la de Amicucci et al. (2001) se formó con *Quercus pubescens*. Micorrizas genéticamente similares sólo han sido registradas en raíces de la orquídea *Bistorta vivipara* en Noruega.

*Pulvinula* sp. 1 + *P. montezumae*. En general, tiene ramificación dicotómica con ramas creciendo con la misma longitud, aunque las ramificaciones secundarias pueden ser en diferentes planos. Las ramas pueden ser cortas dando origen a una estructura más o menos compacta, o bien, los ejes principales pueden alargarse considerablemente después de ramificarse; cuando esto sucede, los ejes principales son moniliformes y las terminaciones no ramificadas tienen forma recta o sinuosa (Fig. 2F). Los colores son café y café grisáceo, aunque las micorrizas muy jóvenes pueden ser café claro y las viejas negras. Las puntas son cilíndricas, infladas de color blanco translúcido. El manto es grisáceo, grueso pero laxo y semitransparente, por lo cual las células de la epidermis se observan en algu-



**Figura 2.** Morfotipos de ectomicorrizas de *Pinus montezumae* con hongos del banco de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana 2. A, ectomicorriza con Pezizaceae sp. 3, en la esquina superior derecha se observa un corte transversal de la micorriza donde se aprecia el manto (a), la red de Hartig (b) y una hifa emanante (c). B, ectomicorriza con Pezizaceae sp. 4. C, ectomicorriza con Pezizales sp. 1. D, punta micorrizada con Pezizales sp. 1. E, ectomicorriza con *Pulvinula constellatio*. F, ectomicorriza con *Pulvinula* sp. 1. G, punta micorrizada con *Pulvinula* sp. 1. H, ectomicorriza con *Rhizopogon fallax*. I, punta micorrizada con *R. fallax*. J, micelio externo de *R. fallax*. K, rizomorfo de *R. fallax*.



nas zonas. Este manto es algo glutinoso y por lo tanto, el suelo se le adhiere formando una capa alrededor de la raíz (Fig. 2G). El manto laxo da origen a un poco de micelio externo corto casi transparente a lo largo de toda la micorriza. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Ajusco, Malinche, Popocatepetl, Iztaccihuatl, San Andrés. Secuencia 93.1% similar a *P. constellatio* AF289074. Micorizas con secuencias similares han sido encontradas en Polonia e Italia, asociadas a plántulas de *P. abies* en vivero, así como a *Quercus* en plantaciones.

*Rhizopogon fallax* A.H. Sm. + *P. montezumae*. Sistema micorrízico complejo, con muchos cambios conforme se desarrolla. Inicia con una ramificación dicotómica en ramas gruesas y cortas, que crecen con la misma longitud aunque no necesariamente en el mismo plano. Después se vuelve más compacto y finalmente coraloide con cierta tendencia a tubercularse (Fig. 2H). La colonización suele comenzar por la punta, en la que se genera una capa de manto blanco algodonoso que va descendiendo por la raíz (Fig. 2I). Conforme esto sucede, el manto se vuelve compacto y toma tonalidades azul verdosas con puntos redondos de color azul. Después de la colonización, desde la punta se genera abundante micelio externo algodonoso de color gris que tiene 2 tipos de hifas. Las más abundantes son delgadas y grises, mientras que las menos abundantes son gruesas y color crema (Fig. 2J). También presenta rizomorfos grises o azulados, gruesos, de los que emerge micelio blanco o café (Fig. 2K). Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Iztaccihuatl y Popocatepetl. La secuencia de sus ITS es 100.0% similar a *R. fallax* AF377143. Micorizas con secuencias casi idénticas son comunes en estudios de bancos de esporas en Estados Unidos, particularmente en California, asociadas a plántulas de pino de bioensayos (Rusca et al., 2006). Sin embargo, ya que las especies del subgénero *Amylopogon* tienen muy poca variación en la región de los ITS, a estas micorizas se les ha identificado como *R. grupo salebrosus* en todos los trabajos.

*Rhizopogon ochraceorubens* A.H. Sm. + *P. montezumae*. Sistema micorrízico grande que comienza con ramificación dicotómica y culmina con forma coraloide. La raíz se divide en 2 ramas que crecen con la misma longitud. La dicotomización puede suceder en el mismo plano o en ángulo, por lo que ramas consecutivas pueden ser incluso perpendiculares. La formación del manto se presenta después de la primera dicotomización e incluso después de la quinta. Antes de la aparición del manto, las terminaciones no ramificadas son cafés o carbonizantes, rectas y granuladas, mientras que las puntas son globosas, translúcidas, blanco grisáceas. Para que se forme el manto, primero se establece un micelio externo algodonoso, abundante, color crema a gris alrededor de las puntas. Luego se produce un manto grueso, algodonoso color crema anaranjado que

desciende hasta cubrir toda la raíz. Conforme el sistema madura, el manto se vuelve café anaranjado, luego café rojizo con zonas grisáceas (Fig. 3A). Cuando la micorriza es coraloide, se rodea por micelio externo algodonoso, grueso, naranja rojizo a grisáceo (Fig. 3B). Conjuntos de hifas forman rizomorfos largos. Distribución geográfica: Iztaccihuatl y Nevado de Toluca. Su secuencia resultó 97.8% similar a *R. ochraceorubens* AF071440. Al igual que la anterior, micorizas con secuencias similares han sido registradas en repetidas ocasiones en estudios de bancos de esporas en bosques de pino en California.

*Sebacina* sp. 1 + *P. montezumae*. Sistema micorrízico dicotómico, con ramas cortas y rectas que crecen con la misma longitud. Las ramas aparecen en diferentes planos. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y son color café claro y oscuro. Las puntas son cilíndricas no infladas, translúcidas. La dicotomización ocurre antes de la formación del manto que es delgado, grisáceo y semi-transparente, por lo que se aprecian claramente las células de la epidermis. Sólo en las ramas entre el eje principal y la última ramificación se establece un manto conspicuo, felposo, laxo con algo de micelio externo translúcido al que se adhieren numerosas partículas de suelo (Fig. 3C). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Ajusco. Su secuencia es 99.3% similar a una muestra ambiental de Sebacinaceae EF619757 encontrada en Carolina del Norte asociada a las raíces de *Pinus taeda* (Parrent y Vilgalys, 2007). Micorizas genéticamente similares se han encontrado en otras partes de Norteamérica, destaca una muestra asociada a árboles adultos de *P. montezumae* en la Malinche, Tlaxcala (Kennedy et al., 2011). Esto nos indica que esta especie tiene una distribución en México más amplia que la que aquí registramos y además, es capaz de micorrizar plantas jóvenes de *P. montezumae* y continuar haciéndolo hasta la edad adulta.

*Sebacina* sp. 2 + *P. montezumae*. Micorriza monopodial a dicotómica, con eje principal y ramas muy largos. Las ramas no siempre crecen con la misma longitud y se pueden doblar. Algunas puntas presentan constricciones y otras son cilíndricas o agudas hacia la punta. La mayor parte del sistema es café oscuro a negro, granuloso, sinuoso y presenta un manto muy laxo y delgado que permite ver las células de la epidermis. Las puntas son blancuzcas. Sólo en las terminaciones no ramificadas se presenta un manto conspicuo, algodonoso a fibroso, de gris oscuro a negro. De él emana un micelio gris oscuro que cubre la micorriza hasta antes de la punta. Presenta numerosas hifas largas, gruesas y negras a lo largo de todo el sistema (Fig. 3D). Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Malinche, San Andrés y entre el Popocatepetl e Iztaccihuatl. No existen secuencias en las bases de datos con similitud mayor a 92% (Cuadro 2).





**Figura 3.** Morfotipos de ectomicorrizas de *Pinus montezumae* con hongos del banco de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana 3. A, ectomicorriza con *Rhizopogon ochraceorubens*. B, puntas micorrizadas con *R. ochraceorubens*. C, ectomicorriza con *Sebacina* sp. 1. D, ectomicorriza con *Sebacina* sp. 2. E, ectomicorriza con Sordariales sp. 1. F, ectomicorriza con Sordariales sp. 2. G, punta micorrizada con *Suillus pseudobrevipes*. H, ectomicorriza con *Suillus pungens*. I, ectomicorriza con Thelephoraceae sp. 1. J, ectomicorriza con *Tuber separans*. K, punta micorrizada con *T. separans*. L, ectomicorriza con *Wilcoxina mikolae*. M, ectomicorriza con *W. rehmi*. N, puntas micorrizadas con *W. rehmi*.

Sordariales sp. 1 + *P. montezumae*. Sistema de monopodial a dicotómico. En cualquier caso, los ejes principales se pueden alargar mucho. Cuando la raíz se divide en 2 ramas, estas crecen con la misma longitud y en el mismo plano. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta o doblada y se hacen más agudas hacia la punta, son de color café oscuro rojizo. Las puntas son cilíndricas o agudas, translúcidas. El manto es denso, lanoso, gris oscuro a negro y suele presentarse en los 2 primeros tercios de la zona ramificada. Del manto surge abundante micelio externo formado por hifas negras, gruesas y largas que en muchos casos forman un micelio negro con gran cantidad de suelo adherido (Fig. 3E). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Nevado de Toluca. No existen en las bases de datos ejemplares voucher con similitud genética mayor a 90% (Cuadro 2).

Sordariales sp. 2 + *P. montezumae*. Sistema micorrízico monopodial pinado a dicotómico con los ejes principales y las ramas largas y sinuosas. Las terminaciones no ramificadas se doblan en curva o en ángulo de 30° antes de la punta, son de color café a café oscuro. Las puntas son rectas, blancas translúcidas. El manto es lanoso, laxo y grisáceo. Toda la micorriza tiene abundante micelio externo algodonoso, de color gris que atrapa mucho suelo (Fig. 3F). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: San Andrés. No existen ejemplares voucher con similitud genética mayor a 90% en las bases de datos (Cuadro 2).

*Suillus pseudobrevipes* A.H. Sm. y Thiers + *P. montezumae*. Sistema micorrízico con ramificación dicotómica, con ramas creciendo con la misma longitud y en el mismo plano. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta. Las puntas van de cilíndricas a agudas, de color blancuzco. El manto es felposo, algodonoso, de color blanco, luego café y finalmente gris. Tiene abundante micelio externo gris que cubre toda la micorriza (Fig. 3G). Sin rizomorfos. Distribución geográfica: Popocatepetl. Su secuencia de los ITS resultó 99.5% similar a *S. pseudobrevipes* SUIITSAE. La mayoría de los morfotipos de micorrizas de *Suillus* son tuberculados. El nuestro es dicotómico y pequeño, por lo que se trata de una micorriza joven o bien de una micorriza que se anastomosa como la de *S. laricinus* + *Larix*, que también presenta tonos grisáceos (Samson y Fortin, 1988). Esta especie forma micorrizas específicamente con miembros de Pinaceae y ha sido encontrada en reiteradas ocasiones en los bancos de propágulos resistentes en bosques de pino en California (Izzo et al., 2006).

*Suillus pungens* Thiers y A.H. Sm + *P. montezumae*. El sistema micorrízico tiene una ramificación dicotómica que se vuelve coraloide y finalmente forma tubérculos. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta y color blanco. Las puntas son cilíndricas, de color blanco o gris azulado translúcido. El manto es algodonoso, blanco, que en la base del sistema micorrízico se vuelve café rojizo con la edad.

En la parte distal se vuelve más laxo y grisáceo dando origen a abundante micelio externo gris que cubre la micorriza originando una especie de tubérculo, aunque la capa superficial no es compacta y las puntas no se anastomosan (Fig. 3H). Presenta rizomorfos delgados, compactos color crema y otros más gruesos, laxos, color gris. Distribución geográfica: Ajusco e Iztaccíhuatl. Secuencia 98.4% similar a *S. pungens* SUIITST. Esta especie forma micorrizas con miembros de Pinaceae y ha sido encontrada en los bancos de propágulos en bosques de pino y en plántulas de bioensayos en California (Izzo et al., 2006; Peay et al., 2007).

Thelephoraceae sp. + *P. montezumae*. Sistema dicotómico y luego coraloide. La micorriza sufre cambios considerables durante su desarrollo y tiene la muy particular característica de que el manto no se vuelve conspicuo hasta que el sistema se ha ramificado mucho, alcanzando un tamaño considerable. Cuando aún no hay manto evidente, la micorriza primero es blanca amarillenta translúcida y luego, conforme madura la raíz y las células de la epidermis adquieren color, se vuelve café rojiza con manchado irregular color negro. Después, la raíz adquiere un veteado heterogéneo con células de la epidermis café claro, café oscuro y negro. Durante este tiempo, sólo se observan hifas como filamentos aislados alrededor de la raíz siendo más evidentes las hifas emanantes que son cortas, delgadas y translúcidas. Finalmente, cuando numerosas ramas convergen y la micorriza adquiere una forma coraloide en el centro con ramificaciones largas dicotómicas a la periferia, se desarrolla un manto felposo, grueso, color crema amarillo que con la edad se vuelve naranja. El micelio externo se hace más abundante y se forman algunos rizomorfos delgados blanco cremoso. Las ramas son largas, rectas, a veces sinuosas. Las puntas son rectas, cilíndricas, donde no hay manto son blancas, luego grisáceas y donde hay manto, son café rojizo (Fig. 3I). Distribución geográfica: Nevado de Colima, Nevado de Toluca, San Andrés, Iztaccíhuatl. Aunque su secuencia resultó 99.0% similar a *Tomentella ellisii* DQ068971, dicha secuencia proviene de una muestra ambiental y no hay ningún otro ejemplar voucher secuenciado genéticamente cercano a nuestra secuencia. Por lo tanto, conservadoramente decidimos asignarle un nombre menos preciso pero confiable. Micorrizas con secuencias similares han sido encontradas en las raíces de plántulas de invernadero de *P. sylvestris* en Lituania (Menkis y Vasaitis, 2011).

*Tuber separans* Gilkey + *P. montezumae*. Sistema micorrízico monopodial, monopodial pinado a dicotómico. Cuando es dicotómico, las ramas de la raíz no necesariamente crecen con la misma longitud; a veces incluso una de las ramificaciones aborta su crecimiento. Las terminaciones no ramificadas tienen forma recta o sinuosa y doblada; unas se doblan de forma curva y otras angularmente. Las puntas son considerablemente infladas, a veces con una constricción



anterior. Cuando la micorriza se desarrolla, toda la rama se infla volviéndose digitiforme, mientras que la ramificación principal sin manto se alarga. Cuando las micorizas son jóvenes son blancas, luego crema, café claro y finalmente cafés. El manto compacto y aterciopelado es transparente al principio y se va engrosando, por lo que las células de la epidermis son evidentes durante buena parte del desarrollo de la micorriza. Cuando maduran, aún se observan zonadas por la transparencia (Fig. 3J). Del manto, al principio, emergen algunas hifas transparentes, posteriormente las hifas emanantes son muy escasas y se desarrollan cistidios cortos en las partes laterales de las terminaciones no ramificadas (Fig. 3K). Distribución geográfica: Nevado de Colima, Nevado de Toluca, Ajusco, Malinche, Popocatepetl, Iztaccíhuatl y San Andrés. La secuencia de sus ITS es: 97.6% similar a *T. separans* HM485387. Comparte con la mayoría de las micorizas de *Tuber* las puntas hinchadas con hifas emanantes. Es muy similar a la micorriza de *T. borchii* + *Corylus avellana* (Rauscher et al., 1996). Esta es la primera micorriza de *Tuber* descrita con alguna especie de pino, dado que este género comúnmente se asocia con angiospermas, particularmente con *Quercus*. Aunque esta especie fue una de las de mayor distribución, no existen micorizas con secuencias con similitud mayor a 98% en las bases de datos, el único registro similar corresponde a una micorriza asociada a *Quercus* spp. en Taxco, Guerrero (Morris et al., 2008).

*Wilcoxina mikolae* (Chin S. Yang y H.E. Wilcox) Chin S. Yang y Corp. + *P. montezumae*. Sistema micorrízico de monopodial a dicotómico. Con 2 ramas que no siempre crecen con la misma longitud y cuando ésta ocurre, es común que una de las ramas no lo haga. Las terminaciones no ramificadas son rectas, curvas o dobladas angular y heterogéneamente o sinuosas. Las puntas son cilíndricas, rectas o ligeramente infladas, de color blanco translúcido o café claro. El manto siempre es muy laxo y delgado. Al principio es inconspicuo permitiendo ver toda la superficie de la raíz y las células epidérmicas, al madurar es un poco más visible pero siempre permite ver la superficie de la raíz. Cuando es evidente, se observa como un conjunto de filamentos alrededor de la raíz del que surgen muchas hifas cortas, de café oscuro a negro que producen un micelio externo laxo de apariencia lanosa. Este micelio externo atrapa cerca de la raíz numerosos microagregados de suelo (Fig. 3L). Se pueden producir rizomorfos delgados y oscuros. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Ajusco, Malinche y Popocatepetl. Su secuencia es 99.8% similar a *W. mikolae* AY880942. Según Agerer y Rambold (2004-2012), la micorriza descrita como *Tricharina gilva* + *Picea sitchensis* (Ingleby et al., 1990) se trata en realidad de *W. mikolae*. Nuestra micorriza concuerda, salvo que es dicotómica y mucho más desarrollada. Esta característica ya ha sido reportada brevemente en las micorizas de *W. mikolae* +

*Pinus* sp. (Agerer y Rambold, 2004-2012). En general *Wilcoxina* spp. produce ectendomicorizas con *Pinus* y *Larix* (Peterson et al., 2004). Múltiples secuencias idénticas o muy similares han sido encontradas en todo el Hemisferio Norte e incluso en plantaciones forestales del Hemisferio Sur en Nueva Zelanda y Argentina. Estas micorizas están particularmente asociadas a plántulas de *Pinus* spp. producidas en vivero, aunque también han sido encontradas en condiciones naturales en otros géneros de la familia Pinaceae como *Larix* y *Pseudotsuga*.

*Wilcoxina rehmi* Chin S. Yang y Korf + *P. montezumae*. Sistema micorrízico profusamente dicotómico, incluso coraloide. Las ramas no siempre crecen con la misma longitud y cuando esto ocurre, una rama puede abortarse. Las terminaciones no ramificadas son rectas, curvas o dobladas angular y heterogéneamente, o sinuosas. Las puntas son cilíndricas, rectas o ligeramente infladas de color blanco translúcido o café claro. El manto al principio es inconspicuo permitiendo ver las células epidérmicas, al madurar se engrosa y se vuelve denso (Fig. 3M). Cuando es evidente, es de apariencia lanosa y en las muy maduras, es carbonizante. Va de color café rojizo a café oscuro y negro (Fig. 3N). De él emanan hifas café rojizo a café oscuro, gruesas y largas que producen un micelio externo abundante de apariencia lanosa. Este micelio externo atrapa numerosos microagregados de suelo. Eventualmente se pueden producir rizomorfos delgados y oscuros. Distribución geográfica: Nevado de Toluca, Ajusco, Malinche, Popocatepetl y San Andrés. Su secuencia resultó 99.7% similar a *W. rehmi* AF266708. Nuestra descripción coincide con la de Tedersoo et al., (2006), salvo que encontramos sistemas micorrízicos más desarrollados. Múltiples secuencias similares ha sido encontradas en todo el Hemisferio Norte.

## Discusión

Las especies que destacaron por su presencia en la mayoría de los sitios fueron *T. separans* presente en 7 volcanes, *Pezizales* sp. 1 y *Pulvinula* spp. presentes en 6 y *C. finlandica* y *W. rehmi* presentes en 5. Llama la atención que todas las especies de amplia distribución sean ascomicetos que producen esporomas muy pequeños, subepigeos o hipogeos; esto indica que el número de esporas no es factor determinante en el éxito de su dispersión, sino la longevidad y resistencia de sus esporas. De hecho, las comunidades de HECM presentes después de incendios son dominadas por ascomicetos con esporas resistentes al calor (Fujimura et al., 2005; Buscardo et al., 2010). *T. separans* y *P. constellatio* estuvieron presentes en el mayor número de volcanes y su distribución abarcó desde el Nevado de Colima hasta la Malinche. Dado que estos organismos han sido escasamente muestreados en las comunidades de HECM, se puede



sugerir que la Faja Volcánica Transmexicana es uno de sus principales centros de distribución.

De las 27 ectomicorizas representadas, las de *H. albo-colossum*, *H. helodes*, *Peziza* sp. 1, *P. aff. ostracoderma*, *Pezizaceae* spp., *Pezizales* sp. 1, *Pulvinula* sp. 1, *R. fallax*, *R. ochraceorubens*, *Sebacina* spp., *Sordariales* spp., *S. pseudobrevipes*, *S. pungens*, *Thelephoraceae* sp. y *T. separans* no habían sido descritas previamente. Esta información sienta las bases para realizar estudios más profundos sobre los HECM asociados a los bosques de pino en México, usando la morfología de las micorizas como un medio para la identificación de las especies. Catorce de las especies presentadas no habían sido previamente encontradas como elementos de las comunidades de HECM formadores de bancos de propágulos resistentes, éstas son: *Geopora* sp., *H. helodes*, *H. leucosarx*, *Peziza* sp. 1, *P. aff. ostracoderma*, *Pezizaceae* sp. 1, sp. 2, sp. 4, *P. constellatio*, *Sebacina* spp., *Sordariales* spp. y *T. separans*. Sólo de 4 de las especies aquí reportadas (*H. mesophaeum*, *H. leucosarx*, *Sebacina* sp. 1 y *T. separans*) se habían encontrado micorizas en México. Esto indica el desconocimiento que tenemos sobre la fase vegetativa de los HECM en nuestro país. Los hongos con esporas o propágulos de resistencia capaces de producir bancos de inóculo latente en el suelo son muy importantes, pues con ellos se pueden desarrollar inóculos para micorizar plántulas en vivero y reforestar con ellas. Las especies de HECM que aquí presentamos pueden usarse para reforestar con plantas y hongos endémicos lo que aumentará la sobrevivencia de las plantas en campo, pues ambos simbiosiontes están adaptados a las condiciones ambientales locales. Para lograr esto, es necesario tener más conocimiento sobre la biología y autoecología de estos HECM, así como aislar cepas y desarrollar tecnologías para la producción de inóculo.

## Agradecimientos

Agradecemos a Edith Hernández, Lucía Yelania Velasco, Carolina Piña y Rodolfo Ángeles por su ayuda para montar el experimento. A Yolanda Orijel Arenas por sus comentarios. Este trabajo fue financiado por los proyectos UCMEXUS-CONACYT 491 y UNAM PAPIIT IN218210.

## Literatura citada

Agerer, R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. *Methods in Microbiology* 23:25-73.  
Agerer, R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 11:107-114.  
Agerer, R. y G. Rambold. 2004-2012. DEEMY – An information system for characterization and determination of ectomycorrhizae. München, Alemania. <http://www.deemy.de/>;

05.06.2012.  
Altschul, S., T. Madden, A. Schäffer, Z. Zhang, W. Miller y D. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402.  
Amicucci, A., A. Zambonelli, C. Guidi y V. Stocchi. 2001. Morphological and molecular characterisation of *Pulvinula constellatio* ectomycorrhizae. *FEMS Microbiology Letters* 194:121-125.  
Baar, J., T. R. Horton, A. M. Kretzer y T. D. Bruns. 1999. Mycorrhizal colonization of *Pinus muricata* from resistant propagules after a stand-replacing fire. *New Phytologist* 143:409-418.  
Brundrett, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews* 79:473-495.  
Brundrett, M. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 320:37-77.  
Bruns, T. D., T. A. Rusca y P. G. Kennedy. 2006. The effect of different pine hosts on the sampling of *Rhizopogon* spore banks in five Eastern Sierra Nevada forests. *New Phytologist* 170:551-560.  
Buscardo, E., S. Rodríguez-Echeverría, M. P. Martín, P. Angelis, J. Pereira y Y. H. Freitas. 2010. Impact of wildfire return interval on the ectomycorrhizal resistant propagules communities of a Mediterranean open forest. *Fungal Biology* 114:628-636.  
Carrasco-Hernández, V. 2010. Aspectos ecofisiológicos de la raíz de *Pinus pseudostrobus* y *P. patula* y especies ectomicorrízicas comestibles de *Hebeloma* spp. y *Laccaria* spp. Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados. Montecillo. 89 p.  
Carrasco-Hernández, V., J. Pérez-Moreno, V. Espinosa-Hernández, J. Almaraz-Suárez, R. Quintero-Lizaola y M. Torres-Aquino. 2010. Caracterización de micorizas establecidas entre dos hongos comestibles silvestres y pinos nativos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1:567-577.  
Carrera-Nieva, A. y G. F. López-Ríos. 2004. Manejo y evaluación de ectomicorizas en especies forestales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 10:93-98.  
Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México; pasado, presente y futuro. CONABIO, IBUNAM, México, D. F. 847 p.  
Challenger, A. y J. Soberon. 2008. Los ecosistemas terrestres. *In* Capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (ed.). México, D. F. p. 87-108.  
Dos Santos, U. M. N., P. Schweiger, P. Sommer, M. Gorfer, J. Strauss y W. W. Wenzel. 2007. Influence of *Cadophora finlandica* and other microbial treatments on cadmium and zinc uptake in willows grown on polluted soil. *Plant Soil and Environment* 53:158-166.

- Drummond, A., B. Ashton, S. Buxton, M. Cheung, A. Cooper, C. Duran, M. Field, J. Heled, M. Kearse, S. Markowitz, R. Moir, S. Stones-Havas, S. Sturrock, T. Thierer y A. W. Wilson. 2010. Geneious v5.3.
- Farjon, A. y B. T. Styles. 1997. *Pinus* (Pinaceae). The New York Botanical Garden, Nueva York. 147 p.
- Fassi, B. y A. Fontana. 1966. Researches on ectotrophic mycorrhizae of *Pinus strobus* in nurseries. II. Mycorrhizae of *Thelephora terrestris*, *Laccaria laccata* and *Hebeloma mesophaeum*. *Alonia* 12:47-53.
- Ferrusquia-Villafranca, I. 1998. Geología de México: una sinopsis. In *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*, T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, México, D. F. p. 3-108.
- Fujimura, K. E., J. E. Smith, T. R. Horton, N. S. Weber y J. W. Spatafora. 2005. Pezizalean mycorrhizas and sporocarps in ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) after prescribed fires in eastern Oregon, USA. *Mycorrhiza* 15:79-86.
- García-Rodríguez, J. L., J. Pérez-Moreno, A. Aldrete, B. M. Cetina-Alcalá y H. Vaquera-Huerta. 2006. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia* 40:665-676.
- Gardes, M. y T. D. Bruns. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118.
- Geml, J., I. Timling, C. H. Robinson, N. Lennon, H. C. Nusbaum, C. Brochmann, M. E. Noordeloos y D. L. Taylor. 2012. An arctic community of symbiotic fungi assembled by long-distance dispersers: phylogenetic diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes in Svalbard based on soil and sporocarp DNA. *Journal of Biogeography* 39:74-88.
- Harrington, T. C. y D. L. McNew. 2003. Phylogenetic analysis places the *Phialophora*-like anamorph genus *Cadophora* in the Helotiales. *Mycotaxon* 87:141-151.
- Horton, T. R. y T. D. Bruns. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10:1855-1871.
- Ingleby, K., P. A. Mason, F. T. Last y L. V. Fleming. 1990. Identification of ectomycorrhizas: ITE Research Publication no 5. HMSO, Londres. 112 p.
- Izzo, A., J. Agbowo y T. D. Bruns. 2005. Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in and old-growth mixed-conifer forest. *New Phytologist* 166:619-630.
- Izzo, A., D. T. Nguyen y T. D. Bruns. 2006. Spatial structure and richness of ectomycorrhizal fungi colonizing bioassay seedlings from resistant propagules in a Sierra Nevada forest: comparisons using two hosts that exhibit different seedling establishment patterns. *Mycologia* 98:374-383.
- Jakucs, E., G. M. Kovacs, R. Agerer, C. Romsics y Z. Eros-Honti. 2005. Morphological-anatomical characterization and molecular identification of *Tomentella stiposa* ectomycorrhizae and related anatomotypes. *Mycorrhiza* 15:247-258.
- Jiménez-Ruiz, M. 2011. Estudio etnomicológico y biotecnológico de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en *Pinus pseudostrobus* y evaluación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal. Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados. Montecillo. 120 p.
- Kennedy, P. G., R. Garibay-Orijel, L. M. Higgins y R. Angeles-Arguiz. 2011. Ectomycorrhizal fungi in Mexican *Alnus* forests support the host co-migration hypothesis and continental-scale patterns in phylogeography. *Mycorrhiza* 21:559-568.
- Kjøller, R. 2006. Disproportionate abundance between ectomycorrhizal root tips and their associated mycelia. *Fems Microbiology Ecology* 58:214-224.
- Kjøller, R. y T. D. Bruns. 2003. *Rhizopogon* spore bank communities within and among California pine forests. *Mycologia* 95:603-613.
- Menkis, A. y R. Vasaitis. 2011. Fungi in roots of nursery grown *Pinus sylvestris*: ectomycorrhizal colonisation, genetic diversity and spatial distribution. *Microbial Ecology* 61:52-63.
- Morris, M. H., M. A. Perez-Perez, M. E. Smith y C. S. Bledsoe. 2008. Multiple species of ectomycorrhizal fungi are frequently detected on individual oak root tips in a tropical cloud forest. *Mycorrhiza* 18:375-383.
- Morrone, J. J., D. Espinosa-Organista y J. Llorente-Bousquets. 2002. Mexican biogeographic provinces: preliminary scheme, general characterizations, and synonymies. *Acta Zoologica Mexicana* 85:83-108.
- Palfner, G. 1998. *Balsamia alba*. In *Colour atlas of ectomycorrhizae*, R. Agerer, (ed.). Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd. p. 114.
- Parrent, J. L. y R. Vilgalys. 2007. Biomass and compositional responses of ectomycorrhizal fungal hyphae to elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. *New Phytologist* 176:164-174.
- Peay, K. G., T. D. Bruns, P. G. Kennedy, S. E. Bergemann y M. Garbelotto. 2007. A strong species-area relationship for eukaryotic soil microbes: island size matters for ectomycorrhizal fungi. *Ecology Letters* 10:470-480.
- Peay, K. G., P. G. Kennedy y T. D. Bruns. 2008. Fungal community ecology: A hybrid beast with a molecular master. *Bioscience* 58:799-810.
- Perez-Moreno, J., M. Martínez-Reyes, A. Yescas-Perez, A. Delgado-Alvarado y B. Xoconostle-Cazares. 2008. Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Botany* 62:425-436.
- Peterson, R. L., H. B. Massicotte y L. H. Melville. 2004. *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press, CABI, Ottawa. 173 p.
- Pitkäranta, M., T. Meklin, A. Hyvärinen, A. Nevalainen, L. Paulin, P. Auvinen, U. Lignell y H. Rintala. 2011. Molecular profiling of fungal communities in moisture damaged buildings before and after remediation - a comparison of culture-dependent and culture-independent methods. *BMC Microbiology* 11:235.

- Pritsch, K., A. Becerra, S. Polme, L. Tedersoo, M. Schlöter y R. Agerer. 2010. Description and identification of *Alnus acuminata* ectomycorrhizae from Argentinean alder stands. *Mycologia* 102:1263-1273.
- Rambold, G. y R. Agerer. 1997. DEEMY - the concept of a characterization and determination system for ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 7:113-116.
- Rauscher, T., W. R. Müller, G. Chevalier y R. Agerer. 1996. *Tuber borchii*. In *Colour atlas of ectomycorrhizae*, R. Agerer, (ed.). Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd. p. 113.
- Rusca, T. A., P. G. Kennedy y T. D. Bruns. 2006. The effect of different pine hosts on the sampling of *Rhizopogon* spore banks in five Eastern Sierra Nevada forests. *New Phytologist* 170:551-560.
- Samson, J. y J. A. Fortin. 1988. Structural characterization of *Fuscoboletinus* and *Suillus* ectomycorrhizae synthesized on *Larix laricina*. *Mycologia* 80:382-392.
- Sandermann, H., H. Kammerbauer y R. Agerer. 1989. Studies on ectomycorrhiza XXII. Mycorrhizal rhizomorphs of *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* in association with Norway spruce (*Picea abies*): formation in vitro and translocation of phosphate. *Trees-Structure and Function* 3:78-84.
- Santiago-Martínez, G., A. Estrada-Torres, L. Varela y T. Herrera. 2003. Crecimiento en siete medios nutritivos y síntesis in vitro de una cepa de *Laccaria bicolor*. *Agrociencia* 37:575-584.
- Simard, S. W., M. D. Jones y D. M. Durall. 2002. Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. In *Mycorrhizal Ecology*, M. G. A. van der Heijden y I. R. Sanders (eds.). Springer-Verlag, Berlin. p. 33-74.
- Smith, M. E. y D. H. Pfister. 2009. Tuberculate ectomycorrhizae of Angiosperms: The interaction between *Boletus rubropunctus* (Boletaceae) and *Quercus* species (Fagaceae) in the United States and Mexico. *American Journal of Botany* 96:1665-1675.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, Londres. 787 p.
- Styles, B. T. 1993. Genus *Pinus*: A Mexican purview. In *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*, T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Oxford University Press, Oxford. p. 397-420.
- Taylor, D. L. y T. D. Bruns. 1999. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Molecular Ecology* 8:1837-1850.
- Tedersoo, L., K. Hansen, B. A. Perry y R. Kjoller. 2006. Molecular and morphological diversity of peizizalean ectomycorrhiza. *New Phytologist* 170:581-596.
- Tedersoo, L., T. May y M. Smith. 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20:217-263.
- Valdés, M. R., E. P. Ambriz, A. V. Camacho y A. M. G. Fierros. 2010. Inoculación de plántulas de pinos con diferentes hongos e identificación visual de la ectomicorriza. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 1:53-64.
- Wei, J. y R. Agerer. 2011. Two sebacinoid ectomycorrhizae on Chinese pine. *Mycorrhiza* 21:105-115.
- Wei, J., D. Persoh y R. Agerer. 2010. Four ectomycorrhizae of Pyronemataceae (Pezizomycetes) on Chinese pine (*Pinus tabulaeformis*): morpho-anatomical and molecular-phylogenetic analyses. *Mycological Progress* 9:267-280.